

(原著論文)

乳用牛の繁殖機能改善を目的とした施灸の有用性

三山紗衣子^{1,*}・小山朗子¹・片岡辰一郎^{1,2}

¹ 東京都農林総合研究センター

² 現 東京都産業労働局農林水産部農業振興課

摘 要

本研究では、施灸の効果を明らかにし、生産者が利用できる繁殖機能改善技術を確立することを目指した。施灸区では、施灸開始 10 分以降から牛の耳介部表面温度が上昇に転じたことから、施灸の温熱刺激による循環機能への影響が示唆される。また、排尿・排便が施灸区で有意に多く見られたことから、施灸と副交感神経系の反応との関連性が示唆されたが、受胎率との関連までは認められなかった。農家実証試験では、施灸により受胎困難牛 22 頭中の 9 頭で受胎を確認し、更には次の発情周期での人工授精で受胎したものも含めると受胎率は 59% となったことから、繁殖機能改善に及ぼす施灸の有用性が明らかとなった。しかし、黄体ホルモン値については、受胎牛と不受胎牛で差は見られず、黄体等の内分泌系への影響については確認できなかった。

キーワード：乳用牛，繁殖機能改善技術，施灸，受胎率，黄体ホルモン

東京都農林総合研究センター研究報告 13: 113-122, 2018

2017 年 9 月 29 日受付，2017 年 12 月 11 日受理

緒 言

乳用牛が安定して生乳を生産するためには、1 年に 1 回分娩することが望ましいが、近年では受胎困難な乳用牛が増加し、牛乳の安定生産において問題となってきた。受胎率の低下の原因には、様々な要因が挙げられる。そのひとつとして大場・堂地 (2012) は、より多くの泌乳量を求めて改良された乳用牛では、泌乳期のエネルギーのバランスが負へと傾き、子宮回復や繁殖機能維持のためのエネルギーが使えなくなるため、卵巣機能は低下し、排卵しても卵子の質は悪化して、早期胚死滅のリスクが高まると報告している。臨床現場では、受胎率の向上を目的としてプロスタグランジン (PGF_{2α}) 製剤投与による黄体退化作用を利用した発情誘起や、性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) 製剤投与によって、黄

体形成ホルモン (LH) が一過性に放出される現象 (LH サージ) を誘導する排卵誘起処置等のホルモン処理が実施されている (松井, 2013)。しかし、ホルモン剤を使うことによってその効果は減退すると言われ、Giordan et al. (2012) は、hCG 排卵誘発製剤 (2,000 単位) を 35 日間隔で繰り返し投与した場合に、抗体の産生を確認している。東京都内に目を向けると、平成 27 年度の東京都内の乳用牛の初回授精受胎率は 39% であり、全国平均の 42% を下回っている。また、都内の平均分娩間隔は 465 日であり全国平均に比べ 32 日長く (家畜改良事業団, 2015)、都内でも繁殖機能を改善させることは重要な課題となっている。

一方、施灸は消化器疾患や繁殖障害、起立不能等で家畜にも応用されてきた (阿部・田浦, 2001)。ヒトや実験動物への施灸では、末梢循環に作用し、血流量が改善す

* 著者連絡先：s-miyama@tdfaff.com

る(松本, 2006)ことが明らかになっており, さらに, 牛では灸処置により子宮動脈血流量が増加したという報告もある(石川ら, 2001)。秋葉ら(2006)の研究では, 分娩後30日および50日に2回施灸した牛は, 無処置牛と比較して初回授精受胎率が有意に高かったことが確認されており, 分娩後の牛に対する施灸の効果も報告されている。したがって, 繁殖機能改善を目的とした牛への施灸は, 子宮や卵巣など雌性生殖器の血流量を増大させることにより, その機能を活性化させることが期待できる。しかし, 牛の卵巣機能に対して施灸が及ぼす効果や適応症例について検討した報告はいまだ少ないのが現状である。

そこで本試験では, 施灸の有用性を検討するとともに, 受胎困難牛への利用を試みた。

材料および方法

1. 施灸による生体への影響評価

(1) 生体反応の測定

供試牛は柵場へ保定し, 対照区と施灸区とも15分間の馴致後に処置した。対照区では, 馴致後20分間無処置とした。一方, 施灸区は, 保坂ら(1997)の方法に準じ, 図1に示す繁殖障害の解消に効くとされる9カ所の経穴に間接灸手法で実施した。すなわち, 牛の頭と尾を固定してから, 経穴に味噌を塗布した後, 丸めた温灸用もぐさ1gをのせて点火した時点を経灸開始とし, もぐさが完全燃焼し, 熱がないことを確認し終了とした(図2)。

まず, 本センターで飼養するホルスタイン種8頭を2区に分け, 対照区(n=28)および施灸区(n=29)を反転させ7~8回繰り返し用いて, 体表面温度および直腸温度の比較を行った。処置は1頭で1日以上の間隔を空けた。処置前後に, 赤外線サーモグラフィ(FLIRi7, CHINO)を用いた体表面(腹部, 大腿部, 鼻鏡部, 耳介部, 尾根三角部)の温度の測定や動物用電子体温計(ThermoVISION, アステック)により直腸温度を測定した。また, 本センターで飼養するホルスタイン種11頭を, 対照区(n=41)および施灸区(n=49)を反転させ8~9回繰り返し用いて, 施灸開始からの排尿, 排便の反応の観察を行った。このうち, 流涎が観察された個体は唾液量を測定した。

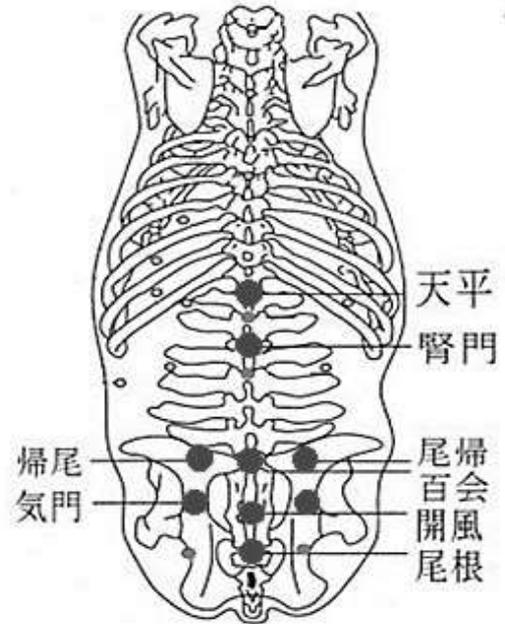


図1 繁殖障害の解消に効く経穴



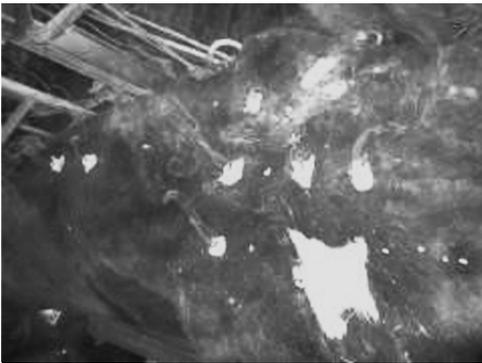
(1) 9つの経穴に味噌を塗る



(2) 味噌の上に丸めたもぐさをのせる



(3) もぐさに点火する



(4) 施灸開始から 15 分待ち、完全に燃焼したことを確認後終了とする

図 2 施灸の方法

(2) 血液成分の分析

本センターが飼養するホルスタイン種 9 頭を、異なる発情周期で対照区と施灸区に分け 3~4 回繰り返し用いて、発情後 8~10 日目の黄体開花期に 1 日 1 回、3 日間連続で施灸した。処置後に採取した血清を用いて、血液生化学検査装置（富士ドライケム 3500V、富士フィルム）により肝機能の指標であるアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（GOT）およびγ-グルタミルトランスペプチダーゼ（GGT）、並びに腎機能の指標である尿素態窒素（BUN）およびクレアチニン（CRE）を測定した。また、電気化学免疫測定法（ECLIA）法により施灸前後の血中黄体ホルモン（以下 P4）値を測定した。

2. 施灸効果の農家実証

実証試験には、本センターおよび都内酪農家 4 戸が飼養する乳用牛それぞれ 5 頭と 17 頭の計 22 頭を用いた。供試牛には、人工授精を 3 回以上実施しても受胎しなかった個体や、空胎日数（分娩してから次に受胎するまでの日数）が 150 日以上の上胎困難とされる個体（経産牛 17 頭）を選定した。人工授精後 6~15 日の黄体開花期に、直腸検査で黄体の存在を確認後、1 日 1 回、3 日間連

続で施灸した。このうち農家飼養牛 4 頭は、自然発情ではなく、ホルモン処置による発情、排卵誘起後の定時授精である。施灸開始からの生体反応の観察、施灸後採取した血清を用いて前述の 1. (2) と同様の方法で P4 値の測定、さらに供試牛の受胎成績を調査した。なお、施灸開始前に体温測定と臨床的に異常のないことを確認した上で、試験を実施した。

本研究は、東京都農林総合研究センター実験動物等実施要領に則って実施した。

3. 統計処理

唾液量、平均 P4 値、平均 P4 値上昇率、生化学検査の結果については、スチューデント t 検定を行った。排便・排尿・流涎の発現割合は、カイ二乗検定（ χ^2 -test）を実施した。全ての統計処理は、R ソフトウェア

（<https://www.r-project.org/>; Ihaka and Gentleman, 1996）により行った。なお、統計学的有意水準は危険率 5%未満とし、危険率 10%未満は傾向ありとした。

結果および考察

1. 施灸による生体への影響評価

(1) 体表面温度・直腸温度の変化

腹部、大腿部、鼻鏡部、尾根三角部の体表面温度は、対照区、施灸区ともに測定開始後終了まで漸減した（データ未記載）。直腸温度は、対照区、施灸区ともに温度は一定で、有意な差はなかった（データ未記載）。耳介部の体表面温度では、対照区は他の部位と同様に開始後終了まで漸減したが、施灸区では開始後 10 分間は漸減し、その後上昇に転じた（図 3）。施灸区の耳介部を除く体表面温度が、処置開始から終了まで漸減したのは、枡場までの移動、保定によるストレスで上昇した温度が馴致によりある程度低下に転じ、処置開始後も継続してその影響を受けていたためと推定される。耳介部表面は毛細血管が密に分布していることから、施灸の刺激によって血流量が増加し、特異的に温度が上昇したと考えられた。

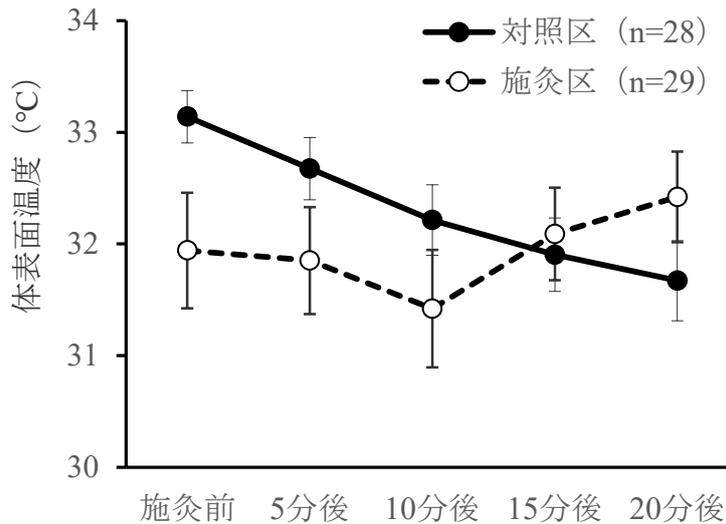


図3 耳介部の体表面温度の変化

(2) 施灸中の生体反応

流涎における唾液の平均分泌量は対照区 (n=20) で 6.2 g であったのに対し、施灸区 (n=23) では 9.1 g となり、両群で有意な差はなかったものの、対照区と比較して施灸区で高い傾向がみられた (図 4)。また、排便は対照区 (n=41) での 7.3 % に対し、施灸区 (n=49) では 69.4 % と有意に多く発現した ($P < 0.05$)。排尿も対照区 (n=41)

での 2.4 % に対し、施灸区 (n=49) では 22.5 % と有意に多く発現した ($P < 0.05$)。排便・排尿は副交感神経系の反応であることから、施灸は副交感神経に作用することが示唆された。排便・排尿の反応は、施灸時に経穴を的確に捉えられているかどうかの指標になるものと考えられる。

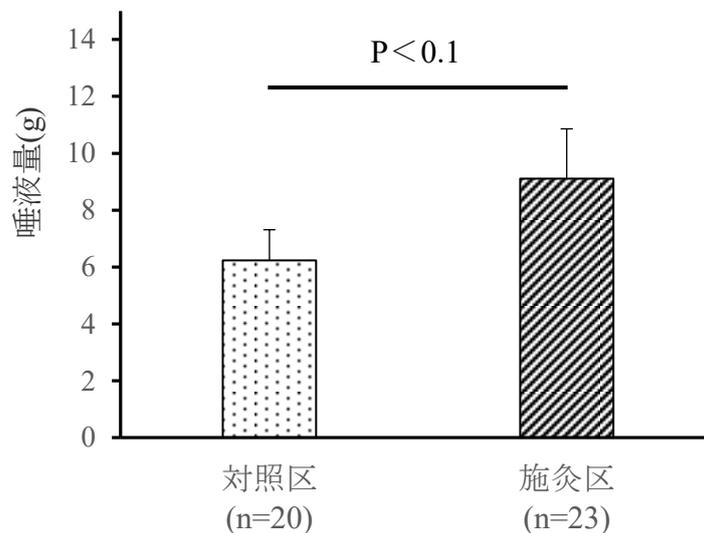


図4 平均唾液量

表 1 施灸による生体反応

	排便		排尿	
	供試頭数	発現頭数 (%)	供試頭数	発現頭数 (%)
対照区	41	3 (7.3)	41	1 (2.4)
施灸区	49	34 (69.4)	49	11 (22.5)
χ^2 -test		P<0.05		P<0.05

ホルスタイン種 11 頭を、対照区 (n=41) および施灸区 (n=49) として反転させ繰り返し用いた

- (3) 血液生化学検査
各検査項目において、対照区 (n=14) と施灸区 (n=15) とで有意な差はなかったことから (表 2)、施灸による肝臓、腎臓への影響はないことが示された。

表 2 血液生化学検査結果の比較

項目	対照区 (n=14)	施灸区 (n=15)
肝機能 GOT (U/L)	75.2±18.8	78.7±18.7
GGT (U/L)	28.7±10.3	29.3±12.9
腎機能 BUN (mg/dL)	8.5±3.4	9.3±3.0
CRE (mg/dL)	0.8±0.1	0.7±0.2

平均値±標準偏差

ホルスタイン種 9 頭を、対照区 (n=14) および施灸区 (n=15) として発情周期ごとに反転させ繰り返し用いた

(4) 血中黄体ホルモン値

処置 3 日目の平均 P4 値は対照区 (n=11) で 6.0 ng/mL であったのに対して、施灸区 (n=13) では 7.6 ng/mL となり、両区間に有意差はなかった。施灸試験初日に対する 3 日目の平均 P4 値上昇率は、対照区 (n=11) の 1.6 に対し、施灸区 (n=13) では 2.5 となり、統計的には有意差はないが、対照区と比較して施灸区で高まる傾向がみられた (図 5)。これらは、石川ら (2001) の黄体開花期

および黄体退行期における灸処置において、処置後に見られた緩やかな P4 濃度の増加傾向や、塚田ら (2012) の研究における乾乳牛への施灸の前後で黄体ホルモン値が増加したという結果と一致する。P4 は子宮内膜に作用して胚を着床しやすくする働きがあることから (橋爪, 2015)、施灸は人工授精後の胚の着床を促進させることで、繁殖機能改善に寄与するものと考えられたが、本研究では明らかにできなかった。

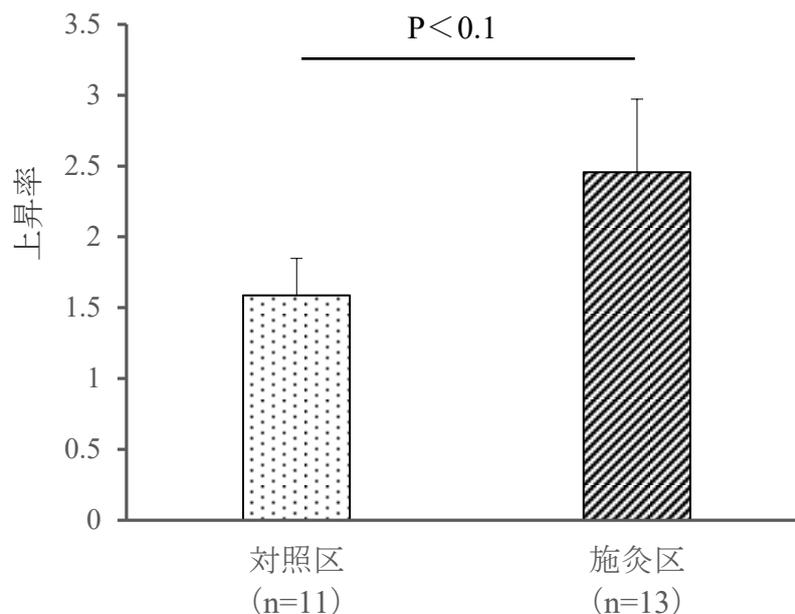


図5 平均血中黄体ホルモン (P4) 値上昇率
 上昇率：3日目施灸後のP4値/初日のP4値

2. 施灸効果の農家実証

(1) 施灸が受胎率に及ぼす影響

供試した22頭のうち、施灸した発情周期の授精で9頭が受胎し、受胎率は40.9%であった。また、4頭は次の発情周期の自然発情で人工授精により受胎し、あわせて受胎率は59.1%であった(表3)。

今回、授精回数が4回以上の牛では10頭中7頭(70%)、空胎日数が301日以上の中では3頭中2頭(66.7%)が

受胎し(表4)、酪農家で問題となるリピートブリーダーや長期空胎にも施灸の効果期待された。さらに、農家で定時授精した4頭のうち3頭が受胎し、ホルモン処置と組み合わせても施灸が利用できることが示された。また、暑熱により受胎率の低下する夏期(6月末~8月末)の施灸で4頭中2頭が受胎したことから、体温測定や臨床症状を確認の上で、夏期にも施灸が行えることが示唆された。

表3 施灸牛の受胎成績

牛群	供試頭数	受胎頭数 ^{a)}	受胎率 (%)	次回受胎頭数 ^{b)}	総受胎頭数	総受胎率 (%)	不受胎頭数
本センター	5	3	(60.0)	1	4	(80.0)	1
農家A	8	4	(50.0)	1	5	(62.5)	3
農家B	2	0	(0.0)	1	1	(50.0)	1
農家C	5	2 ^{c)}	(40.0)	1	3	(60.0)	2
農家D	2	0	(0.0)	0	0	(0.0)	2
計	22	9	(40.9)	4	13	(59.1)	9

a) 施灸した発情周期の授精で受胎した頭数

b) 施灸した発情周期の次の周期の授精で受胎した頭数

c) うち1頭は40日以降に胚死減

表4 人工授精回数・空胎日数別の受胎成績

	人工授精回数		空胎日数		
	3回	4~7回	150日 \leq	201~300日	301日 \leq
供試頭数	12	10	6	8	3
受胎頭数 ^{a)} (%)	6 (50.0)	7 (70.0)	3 (50.0)	4 (50.0)	2 (66.7)

a) 受胎頭数は次回受胎頭数を含めて表示

(2) 施灸時の生体反応と受胎との関連

副交感神経刺激による生体反応が受胎の指標として捉えられるかについて検討した。施灸時の排便は、受胎牛 (n=27) では 48.1%，不受胎牛 (n=39) では 64.1%が発現し、また排尿は、受胎牛 (n=27) では 14.8%，不受胎牛 (n=39) では 12.8%が発現したことから、発現率に有意差はなかった (表5)。これらの結果は、排便、排尿といった施灸時の反応と受胎との関連性がなかったことを

示唆している。流涎は受胎牛 (n=27) で 63.0%，不受胎牛 (n=39) で 23.1%と、受胎牛で有意に高く発現した (表5)。しかし、流涎は副交感神経系が優位であるほか、交感神経系の反応でも粘液性の唾液が分泌され、また、暑熱環境では開口呼吸により唾液量が増加することがある (石井ら, 1964)。そのため、必ずしも施灸で発現する流涎が受胎と関連があるとまでは言えない。

表5 施灸時の反応と受胎との関連性

	排便		排尿		流涎	
	施灸頭数	発現頭数 (%)	施灸頭数	発現頭数 (%)	施灸頭数	発現頭数 (%)
受胎牛	27	13 (48.1)	27	4 (14.8)	27	17 (63.0)
不受胎牛	39	25 (64.1)	39	5 (12.8)	39	9 (23.1)
χ^2 -test	n.s.		n.s.		P<0.05	

n.s.は有意差がないことを示す

施灸頭数は受胎牛 (9頭) および不受胎牛 (13頭) の3日間の施灸時の反応を観察したため、延べ頭数 (受胎牛: 9頭 \times 3日間, 不受胎牛: 13頭 \times 3日間) で示した

(3) 施灸が黄体機能に及ぼす影響

施灸3日目の平均P4値は受胎牛(n=9)で3.8 ng/mLであったのに対し、不受胎牛では5.0 ng/mL(n=13)であり、両群での有意な差はなかった。施灸初日に対する3日目の平均P4値上昇率についても、受胎牛では1.3、不受胎牛では1.4と両群での有意な差はなかった(図6)。これは、P4値の個体差が大きいことや、受胎困難牛は黄体機能が低下しているためと考えられた。

一方で、受胎牛でも不受胎牛ともに初日より2日目、3日目のP4値は上昇した(図6)。生理的には、受胎の成否に関わらず発情後8日目までP4値の上昇が見られるとの報告(Kaneko et al, 1995)がある。また、人工授精前8日から3日にかけて留置型黄体ホルモン製剤(CIDR)処置を行い、P4値を高く維持すると、無処置群よりも次の発情周期での受胎率が高くなるとの報告(Denicol et al,

2012)もある。今回、施灸による黄体機能の影響は、施灸後3日間のP4値の比較では確認できなかった。近年の研究では、乳牛への施灸後に黄体血流量が増加することが報告され(塚田ら, 2012)、また、ホルスタイン種の妊娠牛では施灸後に黄体血流量が有意に増加するとの報告もあることから(Kanazawa et al. 2017)、施灸による黄体血流量への作用が繁殖機能改善に寄与した可能性が高い。より継続的な観察や無処置区の設定も必要であったものの、本試験において施灸でP4値が上昇することで、施灸実施周期で不受胎であった個体が次の発情周期で受胎した可能性が示唆された。更なる検証には、黄体血流量や黄体の大きさ等の検討、次回の発情周期まで一定期間の継続的な黄体の観察が必要であり、今後の課題としたい。

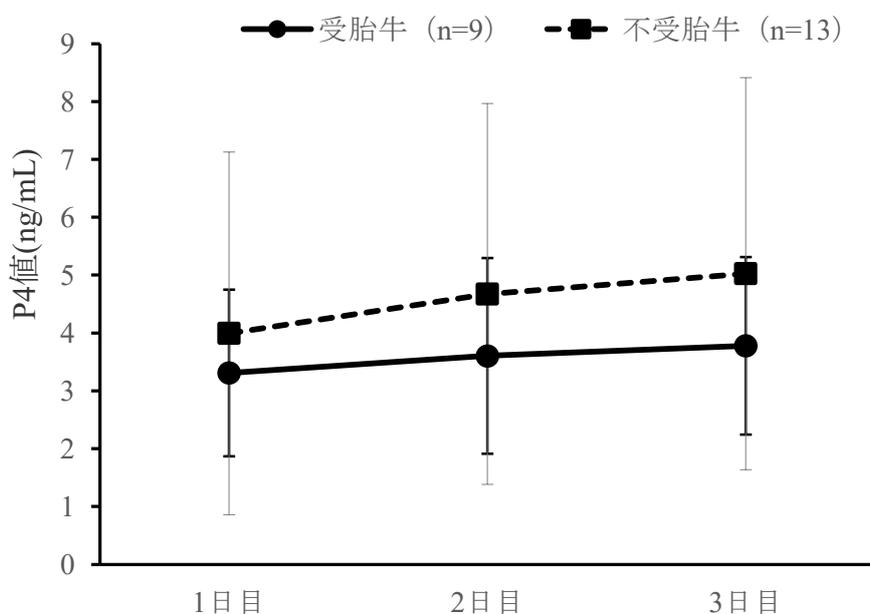


図6 平均血中黄体ホルモン(P4)値の変化

謝辞

本研究を実施するにあたり、農家実証試験でご協力していただいた酪農家の皆様に厚く御礼申し上げます。

引用文献

- 一般社団法人畜改良事業団 (2015) 乳用牛群能力検定成績のまとめ—平成27年度— pp.243
 大場真人・堂地 修 (2012) 栄養と繁殖：乳牛の低受胎率の原因とその克服. 日本胚移植学雑誌 34:55-61

- 松井基純 (2013) 牛の繁殖生理とホルモン剤による制御. 臨床獣医 367:12-18.
 Giordano J. O.・Wiltbank M. C.・Fricke P. M. (2012) Humoral immune response in lactating dairy cows after repeated exposure to human chorionic gonadotropin. Theriogenology. 78:218-224.
 阿部敬一・田浦保穂 (2001) 牛の灸シリーズ 2 乳用牛の症例. 臨床獣医 226:46-57
 秋葉貞治・杉浦健太郎・堂地 修・小山久一 (2006) 灸が乳牛の分娩後の繁殖機能に及ぼす影響. 酪農学園大学紀要 自然科学編 30:235-238

- 松本 勅 (2006) 鍼灸と末梢循環について—とくに研究方法の変遷と研究結果について— 明治鍼灸医学誌 39:1-14
- 石川 初・上村俊一・牛之浜寛治・浜名克己・坂本 紘 (2001) 牛における灸処置が血中性ステロイドホルモン濃度と子宮動脈血流量に及ぼす影響. 日本獣医師会誌 54:527-532
- 保坂虎重・白水完児 (1997) 家畜のお灸と民間療法. 社団法人農山漁村文化協会, 東京. pp.45-51
- 塚田朱香・堀江このみ (2012) 乳牛への施灸が卵巣機能に及ぼす影響 帯広畜産大学特別研究報告 26:25-28
- 橋爪一善 (2015) 牛の着床・受胎機構:基礎研究からの投射. 日本獣医師会雑誌 68:367-378
- 石井尚一 (1964) 高温時におけるホルスタイン雌牛の体温, 脈拍数および呼吸数の変動に関する研究. 九州農試彙報:9:399-491
- H.Kaneko・H.Kishi・G.Watanabe・K.Taya・S.Sasamoto・Y.Hasegawa (1995) Changes in plasma concentrations of immunoreactive inhibin, estradiol and FSH associated with follicular waved during the estrous cycle of the cow. J.Reprod.Dev.41:311-320
- A.C.Denicol・G.Lopes Jr・L.G.D.Mendonca・F.A.Rivera・F.Guagnini・R.V.Perez・J.R.Lima・R.G.S.Bruno・J.E.P.Santos・R.C.Chebel (2012) Low progesterone concentration during the development of the first follicular wave reduces pregnancy per insemination of lactating dairy cows. J.DairyScience.95:1794-1806
- T.Kanazawa・M.Seki・K.Ishiyama・M.Araseki・Y.Izaike・T.Takahashi (2017) Administration of gonadotropin-releasing hormone agonist on Day 5 increases luteal blood flow and improves pregnancy prediction accuracy on Day 14 in recipient Holstein cows. J.Reproduction and Development. 63:391-399

Study on the usefulness of moxibustion to improve dairy cattle reproduction

Saeko Miyama^{1,*}, Akiko Koyama¹, Shinichiro Kataoka^{1,2}

¹Tokyo Metropolitan Agriculture and Forestry Research Center

²Tokyo Metropolitan Government Bureau of Industrial and Labor Affairs
Dep. of Agriculture, Forestry and Fisheries Agricultural Promotion Section

Abstract

The objective of this study was to improve dairy cattle reproduction using moxibustion applied by the farmers themselves. In the moxibustion group, auricle surface temperature increased after 10 minutes. This result suggests that moxibustion treatment affects circulatory organ function with heating stimulation. The incidence of reactions such as urination and defecation was greater in the moxibustion group than in the control group. This indicates that moxibustion treatment might act on the parasympathetic nervous system. However, these reactions were not related to conception. In the demonstration experiment on the farm of 22 cattle, 9 became pregnant after moxibustion treatment, and 4 became pregnant at the next artificial insemination; total pregnancy rate was 59%. These observations in cattle suggest that moxibustion treatment affects reproductive function. However, there was no difference in progesterone levels between the conception and non-conception groups. There was no evidence that moxibustion affects the endocrine system, such as the corpus luteum.

Keywords: dairy cattle, reproduction improvement technique, moxibustion, pregnancy rate, progesterone

Bulletin of Tokyo Metropolitan Agriculture and Forestry Research Center, 13: 113-122, 2018

*Corresponding author:s-miyama@tdfaff.com